取扱説明書

Code No. DTM-101
Code No. DTM-101X10
**保存温度 −20℃**

# Quick Taq® HS DyeMix

本製品は、Taq DNA polymerase を含む 2×マスターミックス（ホットスタート法対応、電気泳動色素入り）です。鋳型 DNA とプライマーを入れるだけで直ちに PCR を実施することができ、反応溶液をそのまま電気泳動解析に供することができます。抗 Taq 抗体がマスターミックスにあらかじめ混合されており、ホットスタート効果により、特異性の高い、高効率な増幅が期待できます。

特長

- 簡単・迅速に PCR
  2×マスターミックスであり、鋳型DNAとプライマーを加えるだけで手軽にご使用いただけます。
  色素（BPB）入りなので、PCR 後にそのままゲルにアプライ可能です。
- 優れた PCR 性能
  最適化されたバッファー組成により、従来の rTaq DNA polymerase よりも PCR 性能が向上しています。
- ホットスタート PCR 対応
  抗 Taq DNA polymerase 抗体によるホットスタート法を採用しており、高い感度と特異性を示します。
- 高い保存安定性
  凍結融解 30 回、4℃保存 3 ヶ月間において安定性を確認しています。

1. 内容物

Quick Taq® HS DyeMix は容量別に次の 2 種類をご用意しております。

| | DTM-101 | DTM-101X10 |
|---|---|---|
| 2x Quick Taq® HS DyeMix | 1.25ml × 2 本 | （DTM-101）×10 |

※ 50μl で反応を行なった場合、100 回用としてご使用いただけます。
※ 短期間（3 ヶ月以内）であれば 4℃保存可能です。長期保存の場合は、-20℃に保存してください。

2. 安全上の注意

本製品は、研究用試薬です。診断および臨床検査用試薬として使用しないでください。また、本製品の使用にあたっては、実験室での一般の注意事項を厳守し、安全に留意してください。関係する実験において、人体に有害な試薬を扱う場合も予想されます。各試薬に添付されている注意書き、機器・器具に添付されている取扱説明書の指示を順守し、必要に応じて適切な保護具をご使用いただきますようお願いいたします。

＜製品の内容・技術に関するお問合せ＞
東洋紡（株）ライフサイエンス事業部　テクニカルライン
TEL 06-6348-3888　　FAX 06-6348-3833
開設時間　9:00~12:00, 13:00~17:00 (土、日、祝日を除く)
E-mail: tech_osaka@toyobo.jp
[URL] http://www.toyobo.co.jp/bio

3. PCR プロトコール

（1）PCR 反応液の調製

反応液を調製する前に Quick Taq® HS DyeMix 試薬を泡立たない様に十分攪拌してからご使用ください。凍結している場合は完全に融解してください。

| | 使用量 | 最終濃度 |
|---|---|---|
| Autoclaved, distilled water | X µl | |
| 2x Quick Taq® HS DyeMix | 25 µl | 1 × |
| 10 pmol /µl Primer #1 | 1.0 µl | 0.2 µM |
| 10 pmol /µl Primer #2 | 1.0 µl | 0.2 µM |
| Template DNA | Y µl | Genomic DNA ～200 ng / 50 µl<br>Plasmid DNA ～50 ng / 50 µl<br>コロニー（※実施例ご参照） |
| Total | 50 µl | |

PCR サイクル条件

| 3ステップ | | | 2ステップ | | |
|---|---|---|---|---|---|
| Predenature : | 94℃, 2min. | | Predenature : | 94℃, 2min. | |
| Denature : | 94℃,30sec. | 25～40 cycles | Denature : | 94℃, 30sec. | 25～40 cycles |
| Annealing : | (Tm-5)℃, 30sec. | | Extension : | 68℃, 1min. /kb | |
| Extension : | 68℃, 1min. /kb | | | | |

・伸長時間(Extension)は、ターゲット鎖長1kb あたり 1min.で設定してください。

・プライマーのTm値が73℃未満の場合は、3ステップにて行ってください。

4. PCR をうまく行うために

（1）反応チューブはできるだけ thin-wall タイプのものをご使用ください。また再現性の高い実験をおこなうために、PCR 反応液は total 50 µl にすることをお薦めします。

（2）プライマーは GC 含量に偏りのない 22~35mer 程度(Tm 値>60℃)のものをご使用ください。また、分子内二次構造や、プライマーダイマーの形成が起こらないように注意して設計してください。

（3）テンプレート DNA の長さや純度は PCR の結果に大きく影響します。テンプレート DNA の量に余裕のある場合は、事前に電気泳動して品質を確認することをお薦めします。

5. PCR 産物のクローニングについて

（1）PCR 溶液は泳動用色素（BPB）を含み、かつ比重が調整されていることから、PCR後、そのままゲルにアプライすることができます。

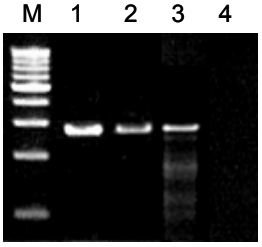
（2）本製品で増幅した PCR 産物は、TA クローニング法によってクローニングできます。弊社高効率 TA クローニングキット『TArget Clone™』(Code No. TAK-101)をご利用いただきますと、簡便に TA クローニングを行うことができます。（※通常、PCR 産物の精製は不要ですが、TA クローニング効率が低い場合は、精製を行なってください。）

＜製品の内容・技術に関するお問合せ＞
東洋紡（株）ライフサイエンス事業部　テクニカルライン
TEL 06-6348-3888　　FAX 06-6348-3833
開設時間　9:00~12:00, 13:00~17:00 (土、日、祝日を除く)
E-mail: tech_osaka@toyobo.jp
[URL] http://www.toyobo.co.jp/bio

6. 実施例

（1）ヒト p53 遺伝子（2.9 kb）の増幅

ヒトゲノム DNA (50 ng) を鋳型として、比較的増幅が難しいとされるヒト p53 遺伝子(2.9 kb)の増幅を実施しました。その結果、Quick Taq® HS DyeMix を用いた場合、最も高効率、かつ特異性の高い結果を得ることができました。また、ホットスタート法を用いなかった場合(3 レーンおよび 4 レーン)、特異性及び感度の低下が見られました（Quick Taq® HS DyeMix はホットスタート法に対応しています）。




鋳型：ヒトゲノムDNA 50ng / 50 μl反応

M：1kb Ladder
1：Quick Taq® HS DyeMix
2：rTaq DNA polymerase（ホットスタート法使用）
3：rTaq DNA polymerase
4：A社 Taq Master Mix

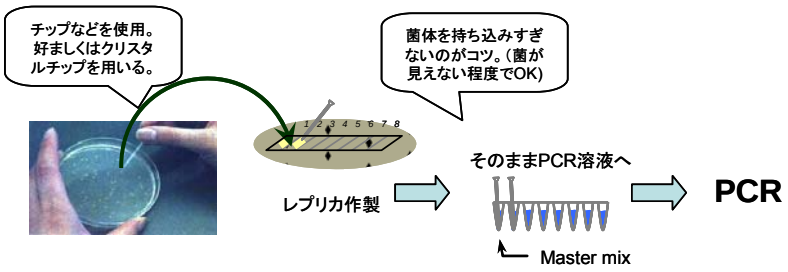
＜増幅条件＞

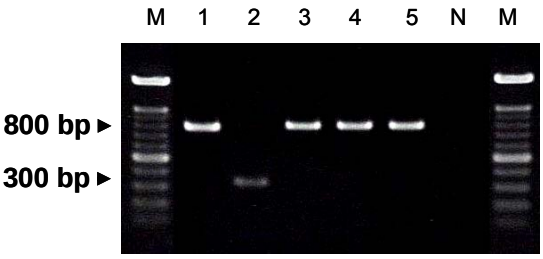
| | | |
|---|---|---|
| 94℃ | 2 min. | |
| 94℃ | 30 sec. | ┐ |
| 60℃ | 30 sec. | ├ 40 cycles |
| 68℃ | 3 min. | ┘ |

Forward Primer : AATGGATGATTTGATGCTGTCCC
Reverse Primer : ATAAGAGCTCCCAAGACTTAG
※終濃度0.2μMで使用

（2）コロニーダイレクト PCR を用いたインサートチェック

500 bp のインサートを有するプラスミド pTA2 を形質転換した大腸菌 DH5α のコロニーをサンプルとして、ベクター上に設計したプライマーを用いて PCR を行いました。その結果、インサートサイズに応じた明瞭なバンドを得ることができました。本試薬が、コロニーダイレクト PCR においても、力を発揮することが分かります。




M: 100 bp Ladder
1: コロニー（インサート＋）
2: コロニー（インサート - ）
3: コロニー（インサート＋）
4: コロニー（インサート＋）
5: コロニー（インサート＋）
N: ネガティブコントロール
M: 100 bp Ladder

＜増幅条件＞

| | | |
|---|---|---|
| 94℃ | 2 min. | |
| 94℃ | 30 sec. | ┐ |
| 62℃ | 30 sec. | ├ 25 cycles |
| 68℃ | 1 min. | ┘ |

Forward Primer : CGCCAGGGTTTTCCCAGTCACGAC
Reverse Primer : AGCGGATAACAATTTCACACAGGAAAC
※終濃度0.2μMで使用

＜製品の内容・技術に関するお問合せ＞
東洋紡(株)ライフサイエンス事業部 テクニカルライン
TEL 06-6348-3888 FAX 06-6348-3833
開設時間 9:00~12:00, 13:00~17:00 (土、日、祝日を除く)
E-mail: tech_osaka@toyobo.jp
[URL] http://www.toyobo.co.jp/bio

7. トラブルシューティング

| トラブル | 考えられる要因 | 対策 |
|---|---|---|
| 増幅産物が見られない。<br>増幅量が少ない。 | サイクル数が少ない。 | サイクル数を 2~5 サイクル程度増やす。 |
| | プライマーの問題。 | プライマーの品質を確認する。→再調製・再合成する。 |
| | | プライマーを再設計する。 |
| | 鋳型DNAの純度が低い。 | 鋳型DNAの純度を確認する。→鋳型 DNA の精製度を上げる。 |
| | 鋳型 DNA 量が少ない。 | 適量の鋳型 DNA を使用する。 |
| | 菌体量が多い。 | 菌体(コロニー)持ち込み量を減らす。 |
| スメア、エキストラバンドが見られる。 | サイクル数が多い。 | サイクル数を 2~5 サイクル程度減らす。 |
| | プライマー濃度が濃い。 | 0.1～0.2μM を中心に検討する。 |
| | アニーリング温度が低い。 | 55～65℃を中心に検討する。 |
| | プライマーの問題。 | プライマーの品質を確認する。→再調製・再合成する。 |
| | | プライマーを再設計する。 |
| | 鋳型DNA量が多い。 | 適量の鋳型 DNA を使用する。 |

8. 関連商品

| 品　名 | 包装 | Code No. |
|---|---|---|
| <高効率 TA クローニングキット><br>TArget Clone™ | 10 回用 | TAK-101 |
| <磁性ビーズを利用した DNA fragment 精製キット><br>MagExtractor™ -PCR & Gel Clean up- | 200 回用 | NPK-601 |

【製造・販売元】

ー納期・注文に関するお問い合わせー

東洋紡株式会社　ライフサイエンス事業部　(大阪)
〒530-8230　大阪市北区堂島浜二丁目 2 番 8 号
TEL 06-6348-3786　FAX 06-6348-3833
E-mail : order_lifescience@toyobo.jp

東洋紡株式会社　ライフサイエンス事業部　(東京)
〒141-8633　東京都品川区東五反田二丁目 10 番 2 号 東五反田スクエア
TEL 03-6422-4819　FAX 03-6422-4951
E-mail : order_lifescience@toyobo.jp